基础研究

红外线影响人皮肤成纤维细胞中c-Jun、Ⅰ型和Ⅲ型胶原的表达

刘 平[1],杨荣丽[2],苏 慧[1],李林丽[1],宋健文[3],卢 宁[1],刘钰泽[1]
[1]西安交通大学医学院第二附属医院皮肤科,陕西 西安 710004;[2]西安一四一医院皮肤科,陕西 西安 710089;[3]西安市儿童医院皮肤科,陕西 西安 710003

摘要:目的 研究红外线对体外培养成纤维细胞(HSF)中c-Jun和Ⅰ、Ⅲ型胶原表达的影响,为红外线引起光老化损伤的分子机制提供理论依据。**方法** 提取原代皮肤成纤维细胞培养,成纤维细胞被分为对照组(无红外线照射)和实验组(红外线照射);用MTT检测各组细胞活性;用实时定量PCR和免疫细胞化学(ICC)方法检测各组c-Jun和Ⅰ、Ⅲ型胶原mRNA和蛋白的表达。**结果** MTT检测显示与对照组比较,实验组各组中红外线照射对HSF的增殖有不同程度的抑制作用;红外线照射下调Ⅰ型胶原mRNA和蛋白的表达,随着照射剂量的增加,Ⅰ型胶原的mRNA和蛋白表达下降越明显(P<0.01);红外线照射成纤维细胞12 h后Ⅲ型胶原mRNA和蛋白的表达都呈照射剂量依赖性下调(P<0.05,P<0.01),24 h后Ⅲ型胶原mRNA和蛋白的表达都呈照射剂量依赖性上调(P<0.05,P<0.01);红外线照射上调了c-Jun mRNA和蛋白的表达水平,随着照射剂量的增加,呈照射剂量依赖性(P<0.05,P<0.01)。**结论** 红外线照射人皮肤成纤维细胞后上调c-Jun表达,抑制Ⅰ型胶原表达,干扰Ⅲ型胶原表达,这可能是其引发和促进皮肤光老化的发生机制之一。

关键词:红外线;c-Jun;Ⅰ型胶原;Ⅲ型胶原;人皮肤成纤维细胞

Expressiona of c-Jun and collagens I and III in cultured human skin fibroblasts are affected by infrared ray radiation

LIU Ping[1], YANG Rongli[2], SU Hui[1], LI Linli[1], SONG Jianwen[3], LU Ning[1], LIU Yuze[1]
[1]Department of Dermatology, Second Affiliated Hospital, Xi'an Jiaotong University College of Medicine, Xi'an 710004, China; [2]Department of Dermatology, Xi'an 141 Hospital , Xi'an 710089, China; [3]Department of Dermatology, Xi'an Children's Hospital, Xi'an 710003, China

Abstract: Objective To observe the effect of solar infrared ray (IR) radiation on the expressions of c-Jun and collagens I and III in cultured human skin fibroblasts (HSFs) and explore the molecular mechanism by which IR radiation causes aging of the skin. **Methods** Primarily cultured HSFs exposed to IR radiation were examined for changes of the cell viability with MTT assay. The mRNA and protein expressions of c-Jun and collagens I and III was detected with real-time quantitative PCR and immunocytochemistry. **Results** MTT assay showed that IR irradiation caused inhibition of cell proliferation compared with the control cells. The mRNA and protein expression of collagen I was decreased significantly by IR irradiation with the increase of the irradiation dose (P<0.01). HSFs irradiated by IR for 12 h showed a dose-dependent reduction of the expression of collagen type III mRNA and protein (P<0.05, P<0.01), but the expression increased dose-dependently in response to IR exposure for 24 h (P<0.05 or 0.01). IR irradiation enhanced the mRNA and protein expression of c-Jun in a dose-dependence manner (P<0.05 or 0.01). **Conclusion** IR irradiation can increase the expression of c-Jun, inhibit the expression of collagen I, and cause disturbance in collagen III expression in human skin fibroblasts, which may be one of the mechanism of IR radiation to initiate and promote skin photoaging.

Key Words: infrared; c-Jun; collagen I; collagen III; human skin fibroblasts

日光照射是引起皮肤结构和功能老化改变的主要因素。日光中的紫外线(UV)目前被公认为是诱导光老化的重要因素[1-2],这已被大量临床实验研究充分证明。然而,流行病学数据和临床观察表明:红外线(IR)辐射不能被认为对人类皮肤完全无害[3]。红外线辐射与紫外线辐射相似,能够导致和加快皮肤光化性损伤的发生,如早衰和致癌作用[4]。以往研究发现近红外线(IR-A)辐射改变了人皮肤中HSF的基因转录[5]。这些基因大幅上调了HSF中基质金属蛋白酶-1(MMP-1)的表达,引起胶原纤维降解,最终导致皱纹形成[6]。近年来的研究表明,高剂量IR-A辐射会对人类皮肤产生病理影响,IR-A辐射引起皮肤发生氧化应激反应,引起线粒体活性氧和自由基的生成[7],启动不同的信号级联通路,破坏真皮细胞外基质结构蛋白,引发皮肤过早老化[8]。但目前国内外对红外线引起皮肤光老化的研究仍然较

收稿日期:2015-10-12
基金项目:国家自然科学基金(30600764);西安交通大学第二医院院基金重点项目(YJ(ZD)201307)
Supported by National Natural Science Foundation of China (30600764).
作者简介/通信作者:刘 平,博士,副主任医师,E-mail: medlp@163.com

少,其分子机制仍处于未知阶段。因此,我们通过本研究进一步阐明红外线诱导皮肤光老化可能的形成机制,为预防皮肤光老化及开发新的防光老化产品提供新思路。

1 材料和方法

1.1 材料

主要试剂:c-Jun抗体(Millipore, USA)、DMEM培养基及胎牛血清(HyClone, USA)、MTT(Thermo electron, USA)、Real time-PCR引物(北京奥科鼎盛生物科技有限公司)、Ⅰ,Ⅲ型胶原兔抗体及免疫组化染色试剂盒(武汉博士德生物科技有限公司)、Vimentin抗体(ImmunoWay, USA)、PrimeScript® RT reagent Kit (Takara, 中国)。主要仪器:倒置及正置显微镜(OLYMPUS, Japan)、CO_2培养箱(Heraeus, Germany)、高速冷冻离心机(Eppendorf, Germany)、红外线仪(重庆华伦弘历实业有限公司)、全波长酶标仪(Thermo electron, USA)Real time-PCR仪(ABI, USA)。

1.2 方法

1.2.1 人皮肤成纤维细胞培养 取3名8~10岁的健康儿童的包皮组织,按照组织块贴壁法进行原代培养,培养成功后通过形态学观察、HE染色及免疫组化进行鉴定,并传代培养[9-10],第3~6代细胞用于实验。

1.2.2 实验分组 (1)实验分组:实验组接受红外线照射,照射时间参考临床治疗时间(红外线仪,波长0.78~2.8 μm,功率100 W),红外线照射时间分别为10、20、30 min,细胞接受照射后继续培养12或24 h,分为6组,即为10 min~12 h组(红外线照射10 min后细胞继续培养12 h,其余组以此类推,红外线照射10、20、30 min相当于照射剂量为60 000、120 000、180 000 J),20 min~12 h组,30 min~12 h组; 10 min~24 h组(红外线照射10 min后细胞继续培养24 h,其余组以此类推),20 min~24 h组,30 min~24 h组。对照组除无红外线照射外,其培养时间及条件与实验组相同;(2)样品制备:用胰酶消化对数生长期的HSF,用完全培养基调整细胞密度为1×10^5/孔HSF,接种于24或96孔板或培养瓶中,5% CO_2的37 ℃培养箱中常规培养。待细胞长至80%左右融合时,分为对照组1个和实验组6个(包括10 min~12 h、20 min~12 h、30 min~12 h、10 min~24 h、20 min~24 h和30 min~24 h组),每次共7组,实验独立重复3次。将培养瓶或培养板置于距离红外线仪25 cm的平面进行照射,照射时间分别为10、20和30 min,照射结束后立即弃掉PBS加入完全培养基继续培养12 h或24 h后收集细胞备用。对照组除未给予红外线照射外,其余与实验组处理相同。

1.2.3 细胞增殖检测(MTT法) 将上述7组96孔板细胞每孔中加入浓度为5 mg/mL的MTT 20 μL,放入含有5% CO_2的37 ℃培养箱中继续培养4 h,终止培养,弃去培养板中每孔上清液后加入150 μL DMSO,震荡10 min,选择490 nm的波长,在酶标仪上测定每孔的吸光值(A值),按照下列公式计算细胞生长抑制率(%)=(实验组A值-对照组A值)/(对照组A值-空白组A值)×100%,细胞存活率=1-细胞生长抑制率(%),计算细胞的存活情况。

1.2.4 HE染色 细胞爬片:将细胞悬液滴到铺有盖玻片的24孔板中,每孔中加入1 mL细胞悬液,放于37 ℃, 5% CO_2培养箱中培养,培养24 h后实验组按上述分组进行红外线照射,对照组不作处理。常规细胞固定后进行HE染色,显微镜下观察并取图。

1.2.5 免疫细胞化学(ICC) (1)细胞爬片及固定方法同HE染色;(2)c-Jun,Ⅰ型胶原、Ⅲ型胶原及Vimentin(波形蛋白)抗体一抗工作浓度分别为:1∶200、1∶50、1∶100及1∶100),阴性对照用PBS代替一抗。免疫组化操作按免疫组化染色试剂盒说明进行。

1.2.6 实时定量PCR (1)按照TaKaRa MiniBEST Universal RNA Extraction Kit试剂盒说明提取总RNA;(2)按照PrimeScript® RT reagent Kit反转录试剂盒说明进行逆转录反应;(3)Real time-PCR过程根据GeneBank中c-Jun、Ⅰ型胶原(COL-1)和Ⅲ型胶原(COL-3)基因序列,以GAPDH为内参基因,设计、合成引物。c-Jun引物:上游引物5'-CCAAGAACTCGGACCTCC-3', 下游引物5'-GAAGCCCTCCTGCTCATC-3',长度167 bp; COL-1引物:上游引物5'-TGGAATGAAGGGACACAGAG-3', 下游引物5'-CAGGGCGACCTCTCTCAC-3',长度155 bp;COL-3引物:上游引物5'-CCTGGTCCTCCTGGTAGT-3',下游引物5'-TCCCTTCTCTCCTGGTTG-3',长度159 bp;GAPDH引物:上游引物5'-CTCCTCCACCTTTGACGCTG-3',下游引物5'-TCCTCTTGTGCTCTTGCTGG-3',长度175 bp。进行实时定量PCR反应,95 ℃ 30 s,95 ℃ 10 s,60 ℃ 30 s,95 ℃ 15 s,60 ℃ 1 min,95 ℃ 15 s,共45个循环。每个标本的各个指标均做3个重复管,取平均Ct值,以管家基因GAPDH为内参基因,采用相对定量法,利用Ct值计算目的基因的相对表达含量,相对表达量=$2^{-\triangle\triangle Ct}$。

1.2.7 统计分析 采用SPSS 13.0软件进行统计分析,数据采用均数±标准差表达,计量资料用方差分析检验多组之间的显著性差异,$P<0.05$认为差异有统计学意义。采用χ^2分析方法对ICC结果进行比较,$P<0.05$认为有统计学显著性差异。

2 结果

2.1 原代人皮肤成纤维细胞的鉴定

通过形态学、HE染色和波形蛋白免疫细胞化学染

色3种方法,证明我们从人包皮中提取、分离和培养的是皮肤成纤维细胞(图1)。

2.2 IR照射对人皮肤成纤维细胞增殖的影响

运用MTT的方法,观察IR照射对HSF增殖情况的影响(图2)。MTT结果显示:(A)图中IR照射HSF后继续培养12 h测其A值,计算细胞存活率,随着IR照射剂量的增加细胞存活率越来越低,与正常组相比,10 min~12 h组HSF存活率无显著性差异(P>0.05),而20 min~12 h和30 min~12 h组HSF存活率差异有显著性差异(P<0.01);(B)图中IR照射HSF后继续培养24 h测其A值,计算细胞存活率,随着IR照射剂量的增加细胞存活率越来越低,与正常组相比,10 min~24 h组HSF存活率无显著性差异(P>0.05),而20 min~24 h和30 min~24 h组HSF存活率差异有显著性差异(P<0.01),以上结果表明:HSF的增殖能力随着IR照射剂量的增加逐渐减弱。



图1 原代人皮肤成纤维细胞鉴定图

Fig.1 Primary culture of human skin fibroblasts. *A*: Phase-contrast microscopy (Original magnification: ×10); *B*: HE staining (×20); *C*: Immunocytochemistry for vimentin showing brown granules in the cytoplasm (×20).

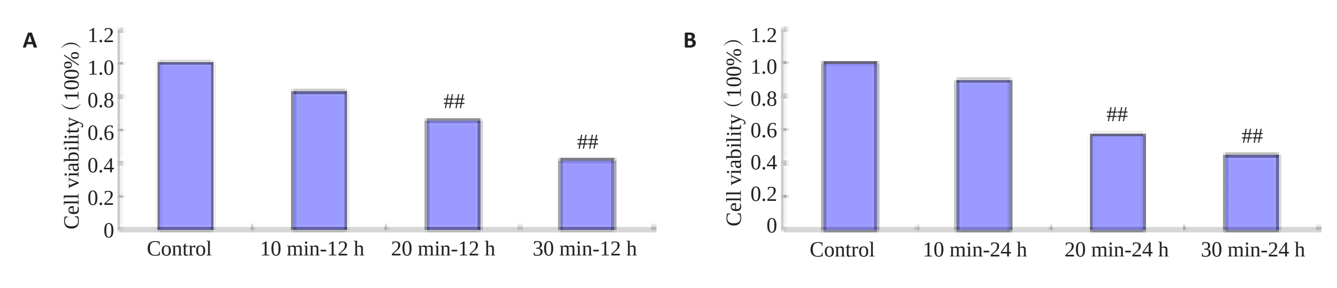


图2 不同IR照射剂量照射HSF后12 h和24 h细胞存活率

Fig.2 Cell survival rate of HSFs exposed to different doses of IR irradiation for 12 h (*A*) and 24 h (*B*) (*Mean*±*SD*, *n*=6). ##P<0.01 *vs* control group.

2.3 IR照射对人皮肤成纤维细胞中c-Jun和Ⅰ、Ⅲ型胶原蛋白表达的影响

c-Jun在细胞核表达,以细胞核出现棕黄色颗粒或呈棕黄色作为阳性细胞,Ⅰ、Ⅲ型胶原(COL-1、COL-3)在细胞质表达,以细胞胞质出现棕黄色颗粒或呈棕黄色作为阳性细胞。随机观察5个高倍视野,按照如下方法对ICC结果进行判断比较,细胞阳性着色程度:无色为0分,浅黄色(+)为1分,棕黄色(++)为2分,棕褐色(+++)为3分,染色强度需与背景着色相对比;依照阳性细胞数量:0分为阴性,1分为阳性细胞<25%,2分为25%~50%,3分为>50%。将上述两项得分相加得出评分结果:≤1分为阴性,2分为弱阳性(+),3~4分为阳性(++),≥5分为强阳性(+++),弱阳性及以上视为阳性表达,对结果进行卡方统计分析。

2.3.1 IR照射对人皮肤成纤维细胞中c-Jun表达的影响 在正常情况下c-Jun不表达或低表达,当受到外界刺激后其表达会发生变化。c-Jun的ICC结果显示:HSF接受3种不同剂量的IR照射,在照射后12 h和24 h后c-Jun蛋白表达均有升高,照射20 min和30 min组与对照组相比,有显著性差异(P<0.01),c-Jun蛋白表达随着IR照射剂量的增加逐渐升高(表1,图3)。

2.3.2 IR照射对人皮肤成纤维细胞中Ⅰ型胶原蛋白表达的影响 在正常情况下成纤维细胞能够表达Ⅰ型胶原(COL-1),当受到外界刺激后其表达会发生改变。COL-1的ICC结果显示:HSF接受3种不同剂量的IR照射,在照射后12 h和24 h后COL-1表达均有下降,照射20 min和30 min组与对照组相比,有显著性差异(P<0.01),COL-1表达随着IR照射剂量的增加逐渐下降(表2,图4)。

2.3.3 IR照射对人皮肤成纤维细胞中Ⅲ型胶原蛋白表达的影响 在正常情况下成纤维细胞能够表达Ⅲ型胶原(COL-3),当受到外界刺激后其表达发生改变。

表1 c-Jun在IR照射组和对照组的表达情况

Tab.1 Expression of c-Jun in IR irradiation group and control group

Group	Negative	Positive	χ^2	*P*
Control	78	23	-	-
10 min-12 h	45	20	1.318	0.25
20 min-12 h	47	39	10.68	<0.01
30 min-12 h	32	60	35.39	<0.01
10 min-24 h	67	36	3.680	0.06
20 min-24 h	38	33	10.67	<0.01
30 min-24 h	31	56	33.19	<0.01

COL-3的ICC结果显示:HSF接受3种不同剂量的IR照射,在照射后12 h后COL-3表达均有下降,照射20 min和30 min组与对照组相比,有显著性差异($P<0.05$或$P<0.01$),但在照射24 h后COL-3表达随着IR照射剂量的增加逐渐升高,与对照组相比,差异有统计学意义($P<0.05$,表3,图5)。

2.4 IR照射对人皮肤成纤维细胞中c-Jun和Ⅰ、Ⅲ型胶原mRNA表达的影响

2.4.1 IR照射对人皮肤成纤维细胞中c-Jun mRNA表达的影响 HSF接受3种不同剂量的IR照射,在照射后12 h和24 h后c-Jun mRNA均有升高,照射20 min和30 min组与对照组相比,有显著性差异($P<0.05$或$P<0.01$),c-Jun mRNA表达随着IR照射剂量的增加逐渐增高,且IR照射后12 h HSF的c-Jun mRNA表达升高最明显(图6)。

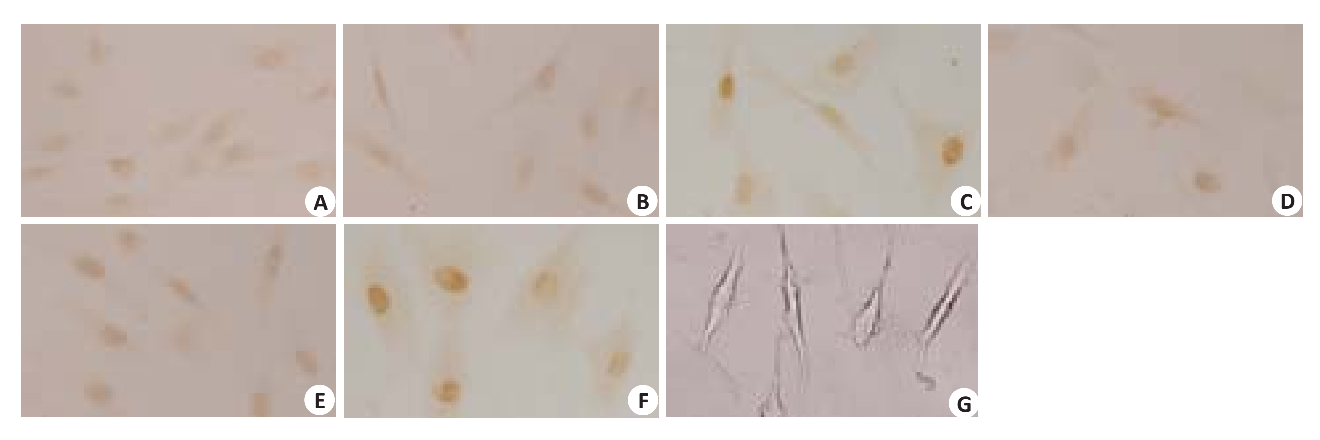


图3 c-Jun在IR照射组和对照组的表达情况

Fig.3 Expression of c-Jun in the IR-irradiated cells and control cells (Original magnification: ×40). *A*: 10 min-12 h; *B*: 20 min-12 h; *C*: 30 min-12 h; *D*: 10 min-24 h; *E*: 20 min-24 h; *F*: 30 min-24 h; *G*: Control.

表2 COL-1在IR照射组和对照组的表达情况

Tab.2 Expression of collagen I in IR-irradiated cells and control cells

Group	Negative	Positive	χ^2	*P*
Control	26	71	-	-
10 min-12 h	32	62	1.183	0.28
20 min-12 h	44	50	8.228	<0.01
30 min-12 h	61	35	26.30	<0.01
10 min-24 h	35	64	1.671	0.20
20 min-24 h	39	40	9.516	<0.01
30 min-24 h	53	28	24.48	<0.01

2.4.2 IR照射对人皮肤成纤维细胞中Ⅰ型胶原mRNA表达的影响 HSF接受3种不同剂量的IR照射,在照射后12 h和24 h后COL-1 mRNA均有下降,照射20 min和30 min组与对照组相比,有显著性差异($P<0.01$),COL-1 mRNA表达随着IR照射剂量的增加逐渐增高,且IR照射后24 h HSF的COL-1 mRNA表达降低最明显(图7)。

2.4.3 IR照射对人皮肤成纤维细胞中Ⅲ型胶原mRNA表达的影响 HSF接受3种不同剂量的IR照射,在照射后12 h后COL-3 mRNA均有下降,照射20 min和30 min组与对照组相比,有显著性差异($P<0.01$),而在IR照射后24 h后COL-3 mRNA表达随着照射剂量的增加逐渐上升,照射20 min和30 min组与对照组相比,有显著性差异($P<0.05$或$P<0.01$,图8)。

3 讨论

皮肤光老化表现为皮肤皱纹、下垂,松弛和色素沉着等。胶原蛋白和弹性蛋白维持皮肤的强度和弹性,它们的异常会引起明显的皮肤退行性改变,导致老化皮肤的出现[11-12]。皮肤光老化的形成不仅与UV辐射[13]有关,也与波长更长的IR辐射有关,IR破坏胶原蛋白代谢平衡,增加导致胶原蛋白降解的MMP-1的表达,并减少胶原蛋白本身的从头合成[14]。

IR产生热,增加受阳光照射皮肤的温度。Cho[15]发现,IR产生的热能引起热休克,增加人体MMP-1、MMP-3和MMP-9 mRNA和蛋白的表达水平,并快速

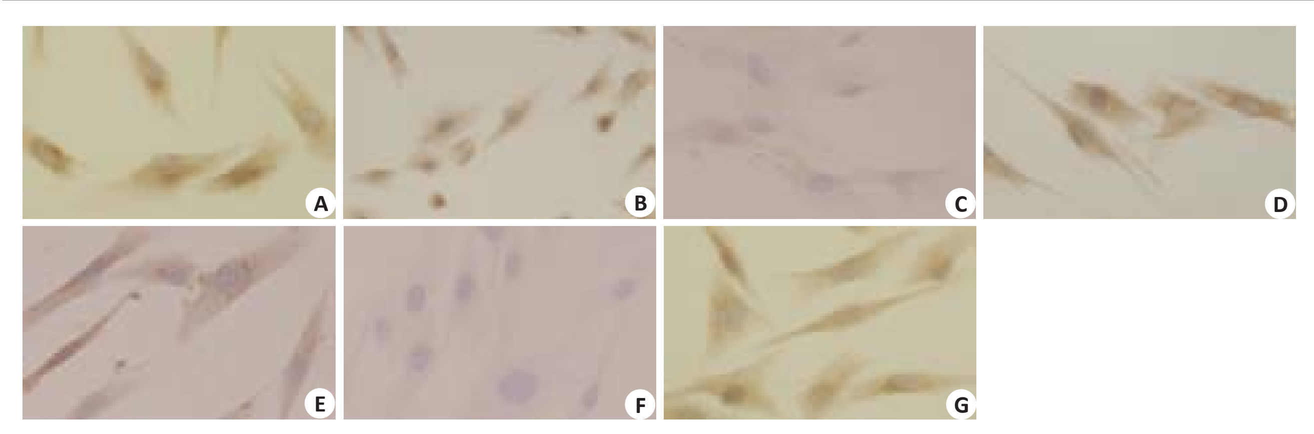


图4 COL-1在IR照射组和对照组的表达情况

Fig.4 Expression of collagen I in IR-irradiated cells and control cells (Original magnification: ×40). *A*: 10 min-12 h; *B*: 20 min-12 h; *C*: 30 min-12 h; *D*: 10 min-24 h; *E*: 20 min-24 h; *F*: 30 min-24 h; *G*: Control.

表3 COL-3在IR照射组和对照组的表达情况

Tab.3 Expression of collagen III in IR-irradiated cells and control cells

Group	Negative	Positive	χ^2	*P*
Control	34	52	-	-
10 min-12 h	29	41	0.057	0.81
20 min-12 h	57	44	5.311	0.02
30 min-12 h	61	37	9.459	<0.01
10 min-24 h	30	73	2.267	0.13
20 min-24 h	22	70	5.031	0.03
30 min-24 h	19	64	5.435	0.02

激活MAPKs信号通路，引起I型胶原降解。Lan[16]发现热可增加真皮成纤维细胞中MMP-1和MMP-3 mRNA的表达，降低抗氧化酶活性，导致结缔组织降解。Schroeder[5]发现IR诱导MMP-1表达上调，而MMP-1的抑制剂TIMP-1表达并没有增加，从而导致胶原蛋白的降解。而长期IR照射无毛小鼠诱发皱纹形成，并增强UV诱导的无毛小鼠皱纹形成和皮肤增厚。IR治疗增加UV诱导的真皮胶原蛋白和弹性纤维降解解[17]。从这些结果，证明IR可单独诱发皮肤皱纹形成，也可增强UV诱导的皱纹形成。

我们的研究结果表明，IR照射成纤维细胞导致Ⅰ

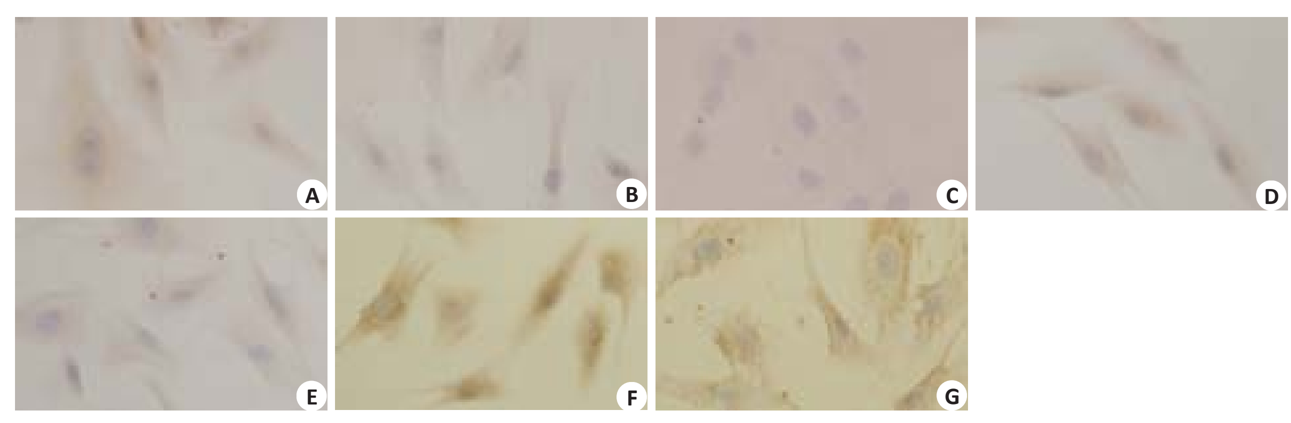


图5 COL-3在IR照射组和对照组的表达情况

Fig.5 Expression of collagen III in IR-irradiated cells and control cells (Original magnification: ×40). *A*: 10 min-12 h; *B*: 20 min-12 h; *C*: 30 min-12 h; *D*: 10 min-24 h; *E*: 20 min-24 h; *F*: 30 min-24 h; *G*: Control.

型胶原mRNA和蛋白表达水平下降，并随着IR照射剂量的增加下降越明显，在IR照射后12 h和24 h这两个时间点的Ⅰ型胶原的表达逐渐下降，而在照射剂量为30 min的24 h这个时间点Ⅰ型胶原的表达下降最明显。Schroeder[18]研究发现IR辐射抑制Ⅰ型胶原合成，这与我们的研究结果是一致的，而Kim[19]却发现，IR刺激成纤维细胞合成Ⅰ型胶原蛋白和弹性蛋白，有益于改善皮肤的纹理和皱纹，可以用来治疗皮肤光老化，这可能与活体细胞和培养细胞对IR的吸收能力不同有关，主要可能与选用的IR波长及照射时间不同有关，本实验所用红外线仪波长为0.78~2.8 μm，接近日光中的红外线波长，有利于模拟日常生活中人体接收到的红外线照射，更真实的反应日光中的红外线对人体皮肤成纤维细胞的作用。

本研究发现，在IR照射成纤维细胞后12 h，Ⅲ型胶原mRNA和蛋白表达水平下降，并随着IR照射剂量的

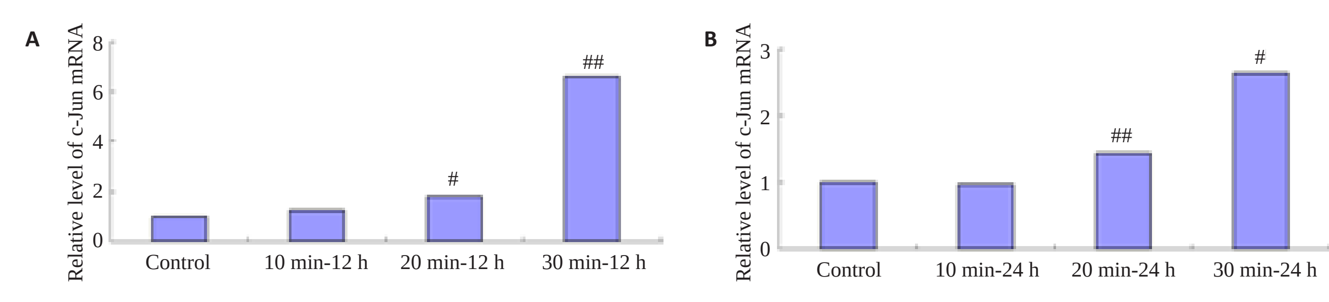


图6 IR照射HSF后12 h和24 h c-Jun mRNA的表达水平

Fig.6 c-Jun mRNA expression level in HSFs exposed to IR irradiation for 12 h (*A*) and 24 h (*B*) (*Mean*±*SD*, *n*=3). #*P*<0.05 *vs* control group; ##*P*<0.01 *vs* control group.

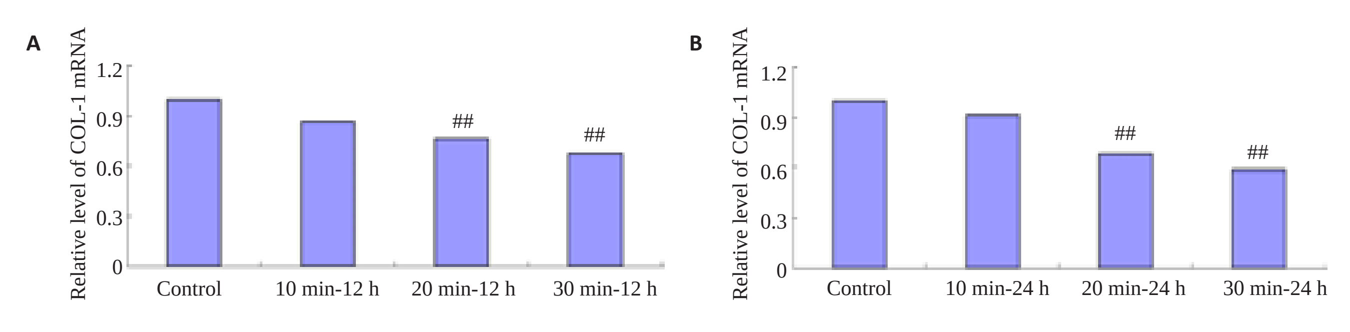


图7 IR照射HSF后12 h和24 h COL-1 mRNA的表达水平

Fig.7 Collagen I mRNA expression level in HSFs exposed to IR irradiation for 12 h (*A*) and 24 h (*B*) (*Mean*±*SD*, *n*=3). ##*P*<0.01 *vs* control group.

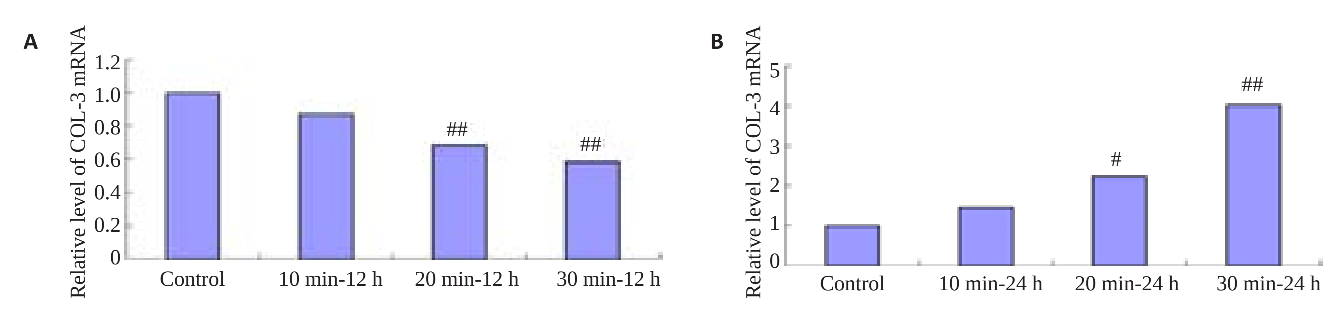


图8 IR照射HSF后12 h和24 h COL-3 mRNA的表达水平

Fig.8 Collagen III mRNA expression level in HSFs exposed to IR irradiation for 12 h (*A*) and 24 h (*B*) (*Mean*±*SD*, *n*=3). #*P*<0.05 *vs* control group; ##*P*<0.01 *vs* control group.

增加下降越明显,有趣的是,在24 h后Ⅲ型胶原mRNA和蛋白表达水平却出现升高,IR照射剂量越大升高越明显,这可能由于IR照射成纤维细胞引起炎症反应,导致Ⅲ型胶原合成增高。Ⅲ型胶原是幼稚、纤细的胶原纤维,Ⅰ型胶原合成减少,Ⅲ型胶原表达增加,二者比例失调[20],最终引起成熟的胶原纤维形成减少,导致皮肤出现松弛和皱纹等光老化外观。

在UV辐射对人皮肤影响的研究中,有证据表明,I型前胶原表达主要受转录过程调节,AP-1,是c-Jun和c-fos组成的蛋白质,负性调节I型前胶原基因转录[21]。UV辐照迅速上调人体皮肤内AP-1的表达,AP-1的增高主要表现为c-Jun表达的增加。在UV照射人体皮肤后24 h内c-Jun最大限度地提高,这种c-Jun持续性增高与观察到的前胶原基因表达持续性降低是一致的,Quan等[22]研究发现c-Jun对UV辐射原代人皮肤成纤维细胞中Ⅰ型前胶原基因表达起抑制作用。Wang和Park等[23-24]发现UV辐射诱导皮肤成纤维细胞中c-Jun快速表达,抑制内源性Ⅰ型和Ⅲ型前胶原基因表达,UV上调c-Jun表达和抑制Ⅰ、Ⅲ型前胶原表达的趋势是一致的。

我们研究发现IR与UV类似,IR照射成纤维细胞后c-Jun蛋白和mRNA表达均有升高,并随着IR照射剂量增加升高越明显,在IR照射后12 h和24 h这两个时间点c-Jun mRNA表达均有升高趋势,而在IR照射后12 h中c-Jun mRNA表达的增高最明显,其中30 min~12 h的c-Jun mRNA表达量是正常组的7倍,该结果与Kim[9]的动物实验结果有类似之处。本实验中,IR诱导

c-Jun增高的趋势和Ⅰ型胶原降低的趋势一致,推测IR可能通过诱导c-Jun表达,抑制Ⅰ型胶原表达来促进皮肤光老化的发生。IR照射后Ⅲ型胶原表达先降低后又升高,而与c-Jun表达增高的趋势不同,Ⅲ型胶原表达先降低可能c-Jun表达增高有关,Ⅲ型胶原表达又升高可能与IR照射成纤维细胞后引起炎症反应有关。

综上所述,IR照射人皮肤成纤维细胞可能通过诱导c-Jun表达,抑制Ⅰ型胶原,扰乱Ⅲ型胶原,导致I型胶原和Ⅲ型胶原比例失调,引起皮肤光老化的发生。但IR引起皮肤光老化的具体分子机制,信号通路及上下游转录因子的调控机制,还有待进一步去研究发现。

参考文献:

[1] Chen B, Li R, Yan N, et al. Astragaloside IV controls collagen reduction in photoaging skin by improving transforming growth factor-β/Smad signaling suppression and inhibiting matrix metalloproteinase-1[J]. Mol Med Rep, 2015, 11(5): 3344-8.

[2] Murakami H, Shimbo K, Inoue Y, et al. Importance of amino acid composition to improve skin collagen protein synthesis rates in UV-irradiated mice[J]. Amino Acids, 2012, 42(6): 2481-9.

[3] Sklar LR, Almutawa F, Lim HW, et al. Effects of ultraviolet radiation, visible light, and infrared radiation on erythema and pigmentation: a review[J]. Photochem Photobiol Sci, 2013, 12(1): 54-64.

[4] Schroeder P, Calles C, Benesova T, et al. Photoprotection beyond ultraviolet radiation-effective sun protection has to include protection against infrared A radiation-induced skin damage[J]. Skin Pharmacol Physiol, 2010, 23(1): 15-7.

[5] Schroeder P, Lademann J, Darvin ME, et al. Infrared radiation-induced matrix metalloproteinase in human skin: implications for protection[J]. J Invest Dermatol, 2008, 128(10): 2491-7.

[6] Kim MS, Kim YK, Cho KH, et al. Regulation of type I procollagen and MMP-1 expression after single or repeated exposure to infrared radiation in human skin[J]. Mech Ageing Dev, 2006, 127(12): 875-82.

[7] Darvin ME, Haag SF, Lademann J, et al. Formation of free radicals in human skin during irradiation with infrared light[J]. J Invest Dermatol, 2010, 130(2): 629-31.

[8] Akhalaya MY, Maksimov GV, Rubin AB, et al. Molecular action mechanisms of solar infrared radiation and heat on human skin[J]. Ageing Res Rev, 2014, 16(14): 1-11.

[9] 陈健霞, 荣新洲, 樊桂成, 等. 不同浓度腐胺对人皮肤成纤维细胞增殖、迁移和凋亡的影响[J]. 南方医科大学学报, 2015, 35(5): 758-62.

[10] 张亮平, 王 洋, 雷 睿, 等. 核因子I-C降低皮肤成纤维细胞对TGF-β的敏感性[J]. 南方医科大学学报, 2015, 35(9): 1245-50.

[11] Chung JH, Eun HC. Angiogenesis in skin aging and photoaging[J]. J Dermatol, 2007, 34(9): 593-600.

[12] Diekmann J, Alili L, Scholz O, et al. A three-dimensional skin equivalent reflecting some aspects of *in vivo* aged skin[J]. Exp Dermatol, 2016, 25(1): 56-61.

[13] Hsu WL, Lu JH, Noda M, et al. Derinat protects skin against Ultraviolet-B (UVB)-Induced cellular damage[J]. Molecules, 2015, 20(11): 20297-311.

[14] Zegarska B, Jóźwicki W, Zegarski W, et al. Histopathological lesions in different types of skin aging[J]. Acta Dermatovenerol Alp Panonica Adriat, 2010, 19(2): 17-21.

[15] Cho S, Lee MJ, Kim MS, et al. Infrared plus visible light and heat from natural sunlight participate in the expression of MMPs and type I procollagen as well as infiltration of inflammatory cell in human skin *in vivo*[J]. J Dermatol Sci, 2008, 50(2): 123-33.

[16] Lan CC, Wu CS, Yu HS. Solar-simulated radiation and heat treatment induced metalloproteinase-1 expression in cultured dermal fibroblasts via distinct pathways: implications on reduction of sun-associated aging[J]. J Dermatol Sci, 2013, 72(3): 290-5.

[17] Kim HH, Lee MJ, Lee SR, et al. Augmentation of UV-induced skin wrinkling by infrared irradiation in hairless mice[J]. Mech Ageing Dev, 2005, 126(11): 1170-7.

[18] Schroeder P, Calles C, Krutmann J. Prevention of infrared-A radiation mediated detrimental effects in human skin[J]. Skin Therapy Lett, 2009, 14(5): 4-5.

[19] Kim JE, Chang S, Won CH, et al. Combination treatment using bipolar radiofrequency-based intense pulsed light, infrared light and diode laser enhanced clinical effectiveness and histological dermal remodeling in Asian photoaged skin[J]. Dermatol Surg, 2012, 38 (1): 68-76.

[20] Nguyen TT, Eklouh-Molinier C, Sebiskveradze D, et al. Changes of skin collagen orientation associated with chronological aging as probed by polarized-FTIR micro-imaging[J]. Analyst, 2014, 139 (10): 2482-8.

[21] Bae JY, Lim SS, Kim SJ, et al. Bog blueberry anthocyanins alleviate photoaging in ultraviolet-B irradiation-induced human dermal fibroblasts[J]. Mol Nutr Food Res, 2009, 53(6): 726-38.

[22] Quan T, Qin Z, Xu Y, et al. Ultraviolet irradiation induces CYR61/CCN1, a mediator of collagen homeostasis, through activation of transcription factor AP-1 in human skin fibroblasts[J]. J Invest Dermatol, 2010, 130(6): 1697-706.

[23] Wang Y, Chen H, Wang W, et al. N-terminal 5-mer peptide analog P165 of amyloid precursor protein inhibits UVA-induced MMP-1 expression by suppressing the MAPK pathway in human dermal fibroblasts[J]. Eur J Pharmacol, 2014, 734: 1-8.

[24] Park JE, Pyun HB, Woo SW, et al. The protective effect of Kaempferia parviflora extract on UVB-induced skin photoaging in hairless mice[J]. Photodermatol Photoimmunol Photomed, 2014, 30 (5): 237-45.

(编辑:经 媛)